L3 UE9 Agents Infectieux
4 Février 2013

Démarches diagnostiques des infections virales





Dr Charlotte CHARPENTIER
MCU-PH
Laboratoire de Virologie – CHU Bichat-Claude Bernard
Université Paris 7

Démarches diagnostiques des infections virales

DIAGNOSTIC DIRECT

Mise en évidence du virus ou d'un de ses composants (ADN, ARN, antigène)

DIAGNOSTIC INDIRECT

Détection des marqueurs immunologiques spécifiques produits par l'organisme en réponse à l'infection virale :

Détection d'anticorps

Signe d'un contact avec le virus

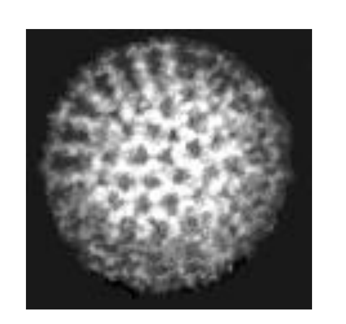
DIAGNOSTIC DIRECT

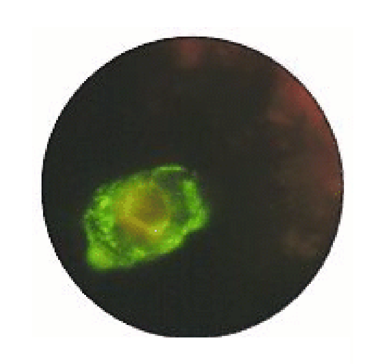
Visualisation du virus dans le prélèvement

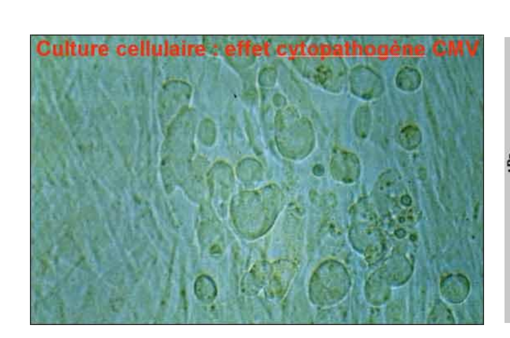
Détection d’antigènes viraux

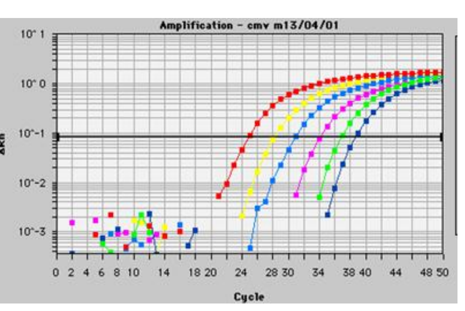
Isolement du virus sur cultures cellulaires

Détection du génome viral









DIAGNOSTIC INDIRECT

Sérologies
Sérodiagnostic



PRELEVEMENT

Prélèvement

- **Etape pré-analytique :** La qualité des résultats dépend essentiellement de la qualité du prélèvement.

- **Echantillons cliniques doivent être :**
  - appropriés à l'examen demandé
  - prélevés à un moment adapté à la chronologie de l'infection
  - conservés dans des conditions favorables en attendant et durant leur acheminement au laboratoire

- **En cas de pathologie aiguë les prélèvements doivent être :**
  - réalisés le plus tôt possible après le début de l'infection, au moment des symptômes cliniques (pour le diagnostic direct)
  - avant la mise en route d'un traitement antiviral
  - leur site dépend des symptômes cliniques et du mode de transmission des virus suspectés

- **En cas de diagnostic indirect :** penser au délai d'apparition des Ac par rapport au contage = fenêtre sérologique, réaliser un second prélèvement à distance

Prélèvement

- **Types de recueil** :



  - tube sec
  - tube contenant un anticoagulant (EDTA)



- **Tube ou milieu de transport en fonction de la** :
  - nature du prélèvement
  - technique à mettre en œuvre

Jamais de tube hépariné pour la biologie moléculaire (inhibiteur de la Taq Polymérase : enzyme d'amplification de la PCR)

Technique envisagée	**Biologie Moléculaire** (charges virales, PCR, séquençage)	**Sérologies virales**
Tube	EDTA	sec
Délai pour arriver au laboratoire	<24h	<24h

Prélèvement

- Demande de mise en culture :

- Ecouvillon
- En présence OBLIGATOIRE de milieu de transport pour décharger l'inoculum viral

Importance +++ de la présence de <u>CELLULES dans le prélèvement</u> (virus = parasite intracellulaire strict)

Milieu de transport = milieu de culture (milieu nutritif permettant au virus de rester infectieux pendant le délai prélèvement => laboratoire)



- Prélèvements « précieux » :

- Prélèvements respiratoires : milieu de transport; arrivée le plus rapidement possible au laboratoire ou conservation à +4° C pendant 48h maximum

- LCR : tube sec stérile, arrivée dans les 24h, conservation à +4° C

Prélèvement : FEUILLE DE DEMANDE

- Nom, prénom, date de naissance du patient
- Date et heure du prélèvement
- Nature et site du prélèvement
- Nom du prescripteur
- Nom du préleveur

NORME ISO15189
=> Accréditation

- **RENSEIGNEMENTS CLINIQUES sur le motif de la demande et chronologie précise des événements => ESSENTIELS pour le choix de la technique et pour l'interprétation des résultats (une feuille de demande mal renseignée peut affecter le rendu des résultats).**

Nécessité de l'ensemble de ces informations pour traiter correctement l'analyse

- ✓ **Non conformité => refusé et examen non réalisé**
- ✓ **Non informatif**

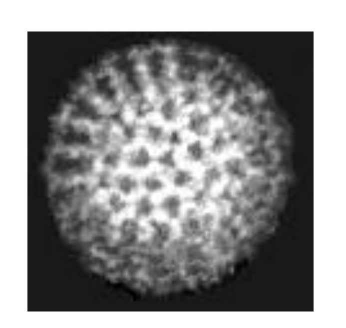
DIAGNOSTIC DIRECT

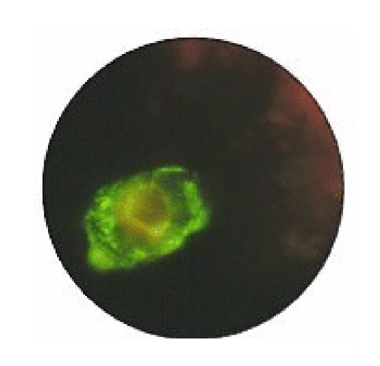
Visualisation du virus dans le prélèvement

Détection d'antigènes viraux

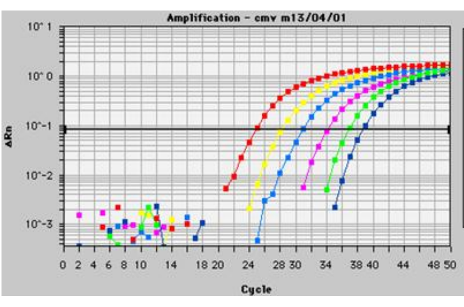
Isolement du virus sur cultures cellulaires

Détection du génome viral









Visualisation de la particule virale en microscopie électronique

- **Coloration négative**

  ➢ **Simple et rapide ; grossissement : x 50 000-60 000**

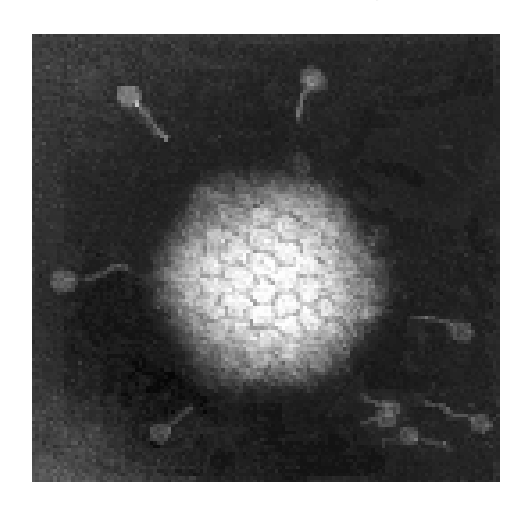
  ➢ **Diagnostic de famille de virus (morphologie)**

  ➢ **Permettait :**

  ✓ **Diagnostic des gastro-entérites :** Rotavirus, Adénovirus, Norwalk like, Astrovirus, Calicivirus

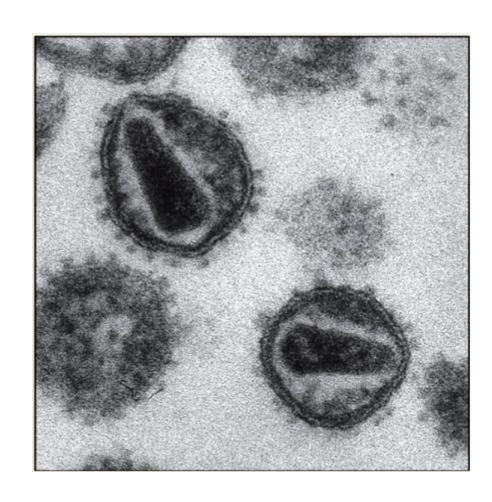
  ✓ **Diagnostic à partir de liquide vésiculaire :** HSV, VZV

  ✓ **Diagnostic à partir de grattage cutané :** Orf, *molluscum contagiosum*



Adénovirus

Rotavirus



VIH

Visualisation de la particule virale en microscopie électronique

- **Inconvénients :**



➢ **Nécessité d'un microscopiste entraîné**

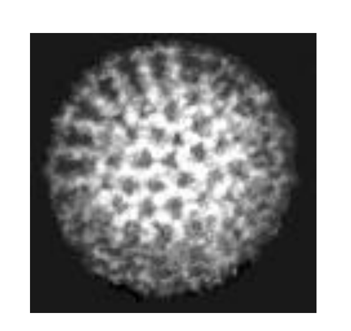
➢ **Equipement coûteux, maintenance lourde (pas présent dans tous les laboratoires de virologie)**

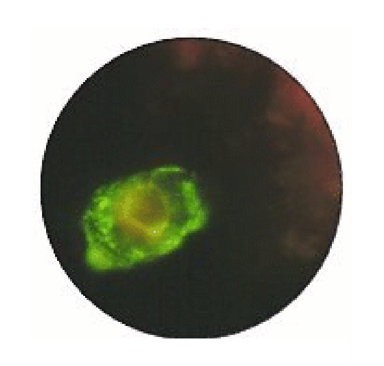
➢ **Sensibilité faible (Nécessite d'au moins 10^6 particules virales)**

=> N' a plus d' indications en pratique courante

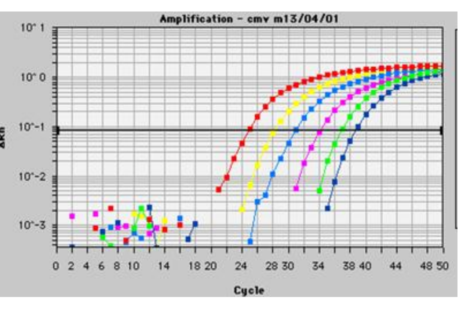
DIAGNOSTIC DIRECT

- **Visualisation du virus dans le prélèvement**
- **Détection d'antigènes viraux**
- **Isolement du virus sur cultures cellulaires**
- **Détection du génome viral**









Détection des antigènes dans le prélèvement

- **Détection d'antigènes intracellulaires**
  - **Réaction d'immunofluorescence**
  - **Immuno-enzymatique (immunoperoxydase)**
  - **Immunodiffusion (savonnette, bandelette)**
  - **Agglutination (latex)**

- **Détection d'antigènes libres**
  - **Immuno-enzymatique**

Détection des antigènes dans le prélèvement

- **Détection d'antigènes intracellulaires**
  - ➢ **Réaction d'immunofluorescence**

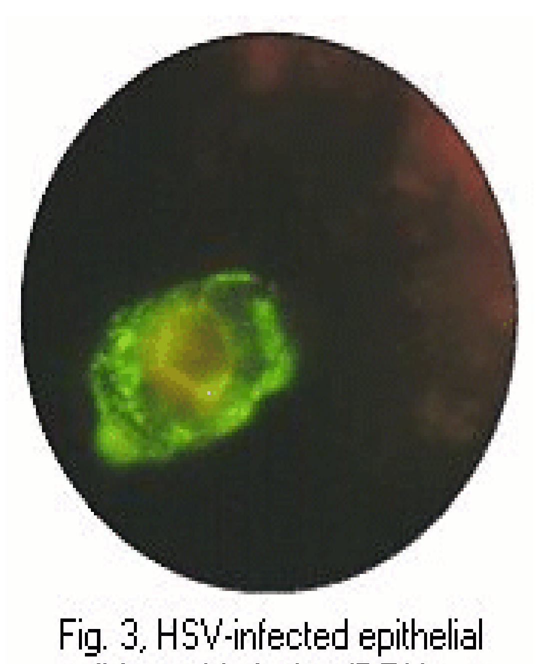
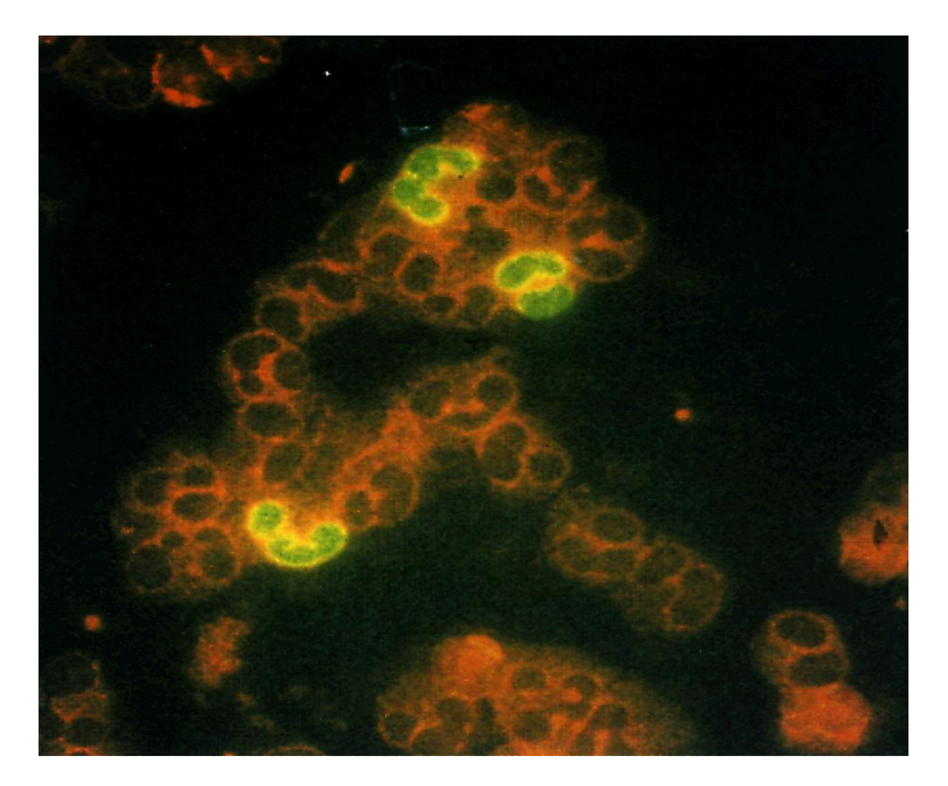


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)



Antigénémie pp65 (CMV)

Détection des antigènes dans le prélèvement

- **Détection d' antigènes intracellulaires**

  - **Réaction d'immunoperoxydase**



Longtemps utilisée sur des cultures cellulaires => détection d'Ag précoces => rendu rapide en 48 heures

Détection des antigènes dans le prélèvement

- **Détection d'antigènes intracellulaires**

  ➤ **Réaction d'immunodiffusion, technique immuno-chromatographie (savonnette,**

VRS, Influenzavirus

Diluant
6 gouttes

Échantillon
250 µl

1

Mélanger
par Vortex

2

10
secondes

15 minutes

Positif

Négatif

Bande
contrôle

3

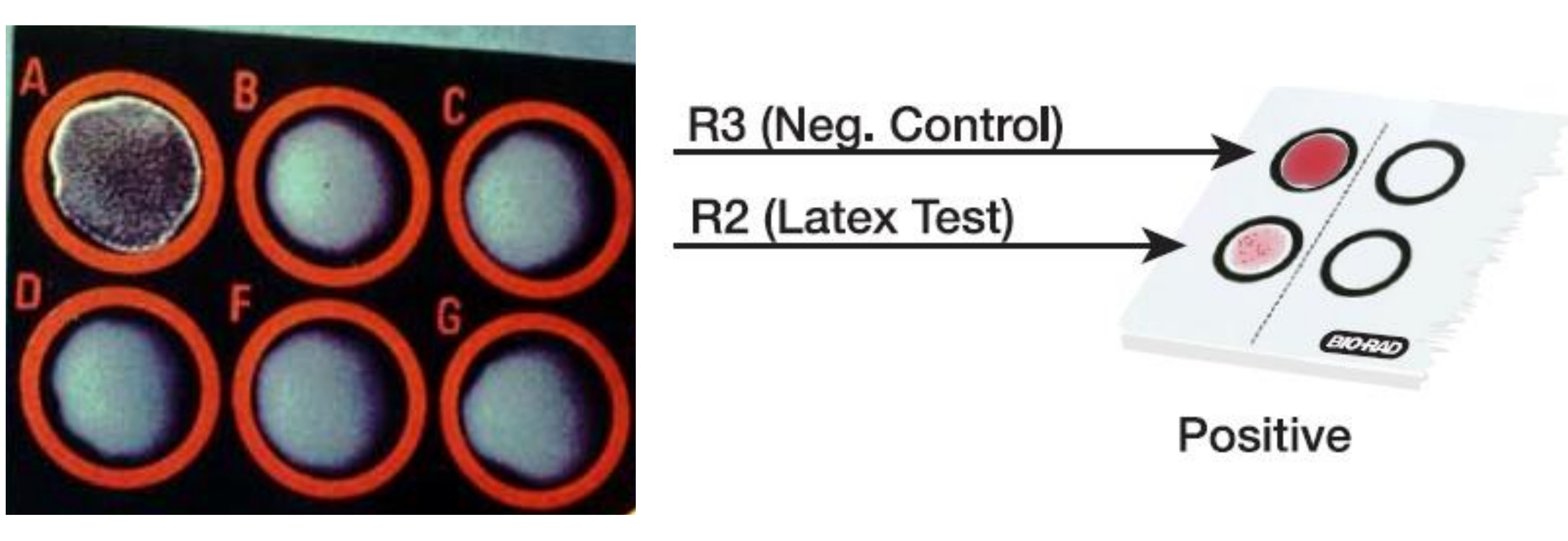
Résultat



Détection des antigènes dans le prélèvement

- **Détection d'antigènes intracellulaires**

  ➢ **Réaction d'agglutination (latex)**



=> Seule indication en virologie clinique : Antigènes rotavirus et adénovirus dans les selles

Diagnostic rapide par détection d'antigènes viraux

Prélèvements respiratoires	VRS Influenzavirus A et B Parainfluenzavirus Adénovirus
Selles	Rotavirus Adenovirus
Peau	HSV VZV
Sang	CMV

Diagnostic rapide par détection d'antigènes viraux

- **Avantages**
  - Résultats disponibles rapidement (de 10 min à 2 h)

- **Inconvénients**
  - Faible sensibilité par rapport à la culture (jusqu'à 20%) et par rapport à la biologie moléculaire (jusqu'à 50%)
  - Spécificité dépendante de la qualité des anticorps
  - Nécessité de prélèvements de bonne qualité
  - Technique manuelle avec une lecture longue et subjective (surtout pour immunofluorescence) nécessitant un technicien expérimenté

Diagnostic des antigènes libres

- **Antigène produit en excès et excrété dans le sérum**
- **Réaction immuno-enzymatique (ELISA)**
  - Support solide (plaque, tube, bille)
  - Anticorps de capture monoclonal ou polyclonal
  - Anticorps de révélation couplés au système révélateur
  - Quantification possible
- **Exemples**
  - Détection de l'antigénémie HBs (VHB)
  - Détection de l'antigénémie p24 (VIH)
- **Toute positivité doit toujours être suivie d'une neutralisation pour s'assurer de la spécificité de l'Ag détecté** (incubation avec des Ac anti-p24 ou Ac anti-HBs puis dosage pour vérifier la négativation en raison du complexe Ag/Ac formé)

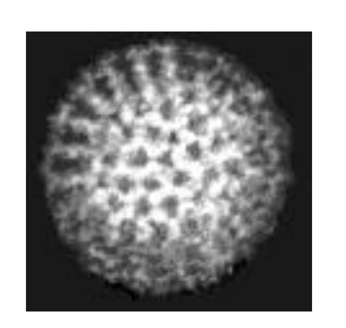
DIAGNOSTIC DIRECT

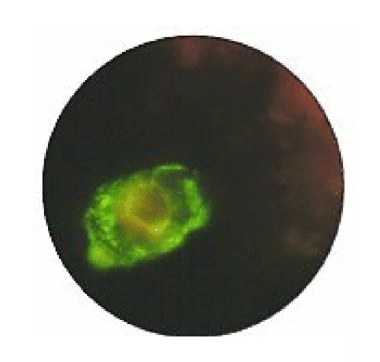
Visualisation du virus dans le prélèvement

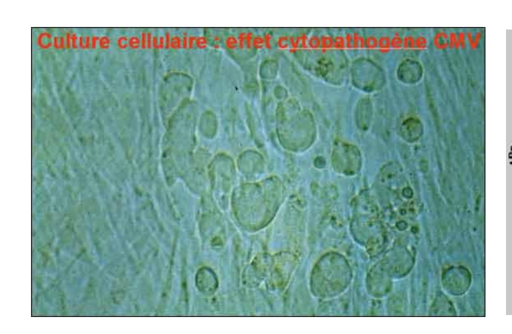
Détection d'antigènes viraux

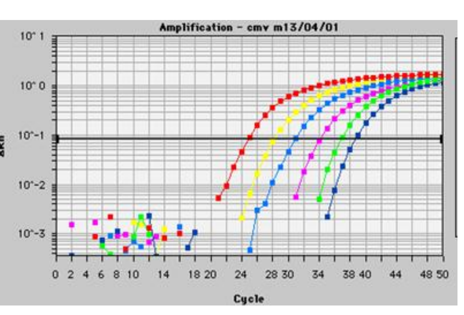
Isolement du virus sur cultures cellulaires

Détection du génome viral









ISOLEMENT VIRAL

Réplication virale au sein de cellules vivantes : 3 modèles existants

-**Animal entier (cobaye, souris, souriceau nouveau-né) n'est plus utilisé en pratique (recherche)**

- Œuf embryonné (Influenzavirus => fabrication du vaccin antigrippal)

- Cultures cellulaires : Support de choix pour la multiplication virale



ISOLEMENT VIRAL EN CULTURE CELLULAIRE

METHODE DE REFERENCE EN VIROLOGIE

INTERETS :

- **Diagnostiquer l'infection virale**

- **Apporter la preuve du caractère infectieux des particules virales présentes dans le prélèvement**

  ➔ Isolement et conservation de la souche

- **Etudier la résistance du virus aux antiviraux**

- **Réaliser des enquêtes épidémiologiques**

DIFFERENTS TYPES DE CELLULES UTILISES POUR LA CULTURE CELLULAIRE

• Diploïdes (à durée de vie limitée)

- **Pas de passage possible ou nombre de passages limité**
- **Inhibition de contact, nombre pair de chromosomes**

▪ **Cellules de primo-explantation :** Rein de singe
  - Susceptibles à de nombreux virus
  - Chères

▪ **Cellules embryonnaires :** Fibroblaste humain embryonnaire (MRC5)

• Continues (immortelles)

- **Cellules transformées**
- **Lignées cellulaires :**
  - HeLa (cellules cancer col utérus HPV)
  - Vero (cellules épithéliales rein de singe)
  - Hep2 (cellules issues carcinome pharyngé humain)
  - LLC-MK2 (cellules épithéliales rein de singe)
  - MDCK (cellules épithéliales rein de chien)

Peu onéreuses

Spectre de susceptibilité virale limité pour chaque lignée cellulaire

DIFFERENTS TYPES DE CELLULES

Sensibilité variable des types cellulaires aux différents virus

➔ **Nécessité de disposer de plusieurs types de cellules**

➔ **Au minimum fibroblastes embryonnaires humains plus une ou deux lignées continues**

Choix du type de cellules à inoculer dépendant du virus recherché

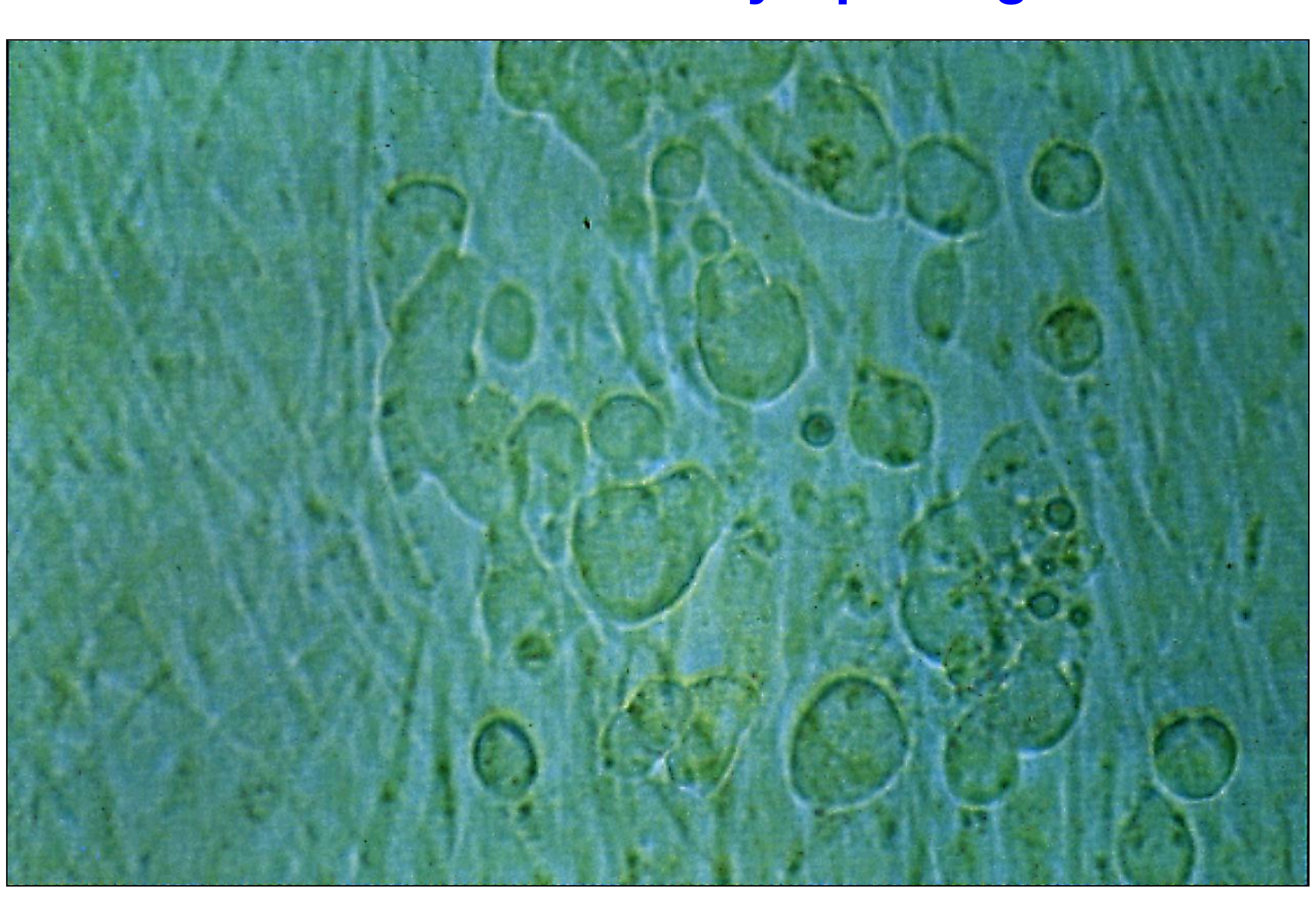
ISOLEMENT VIRAL CLASSIQUE EN CULTURE CELLULAIRE

Effet cytopathogène (ECP) : à l'observation à l'état frais au microscope

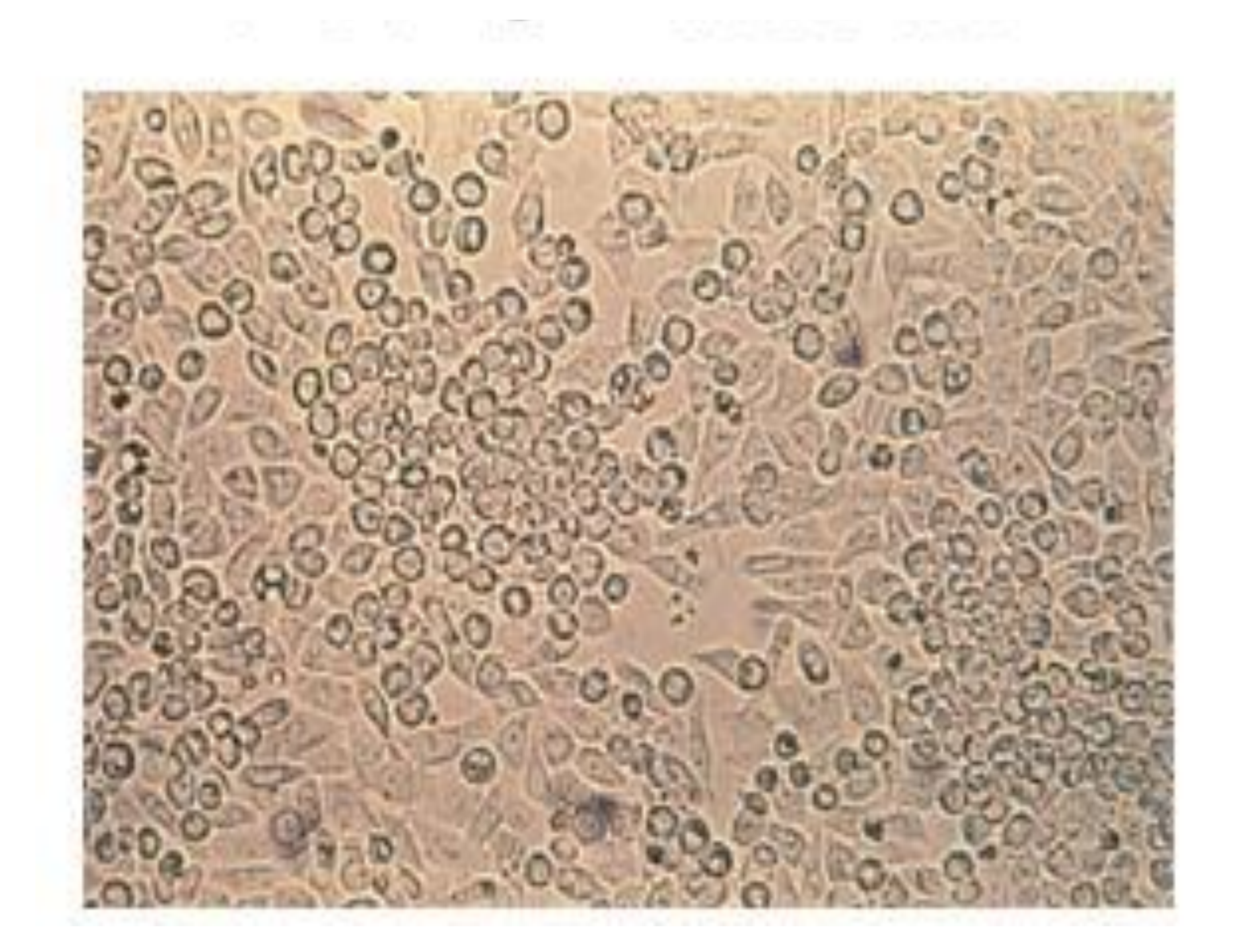
= Ensemble des modifications induites dans la cellule infectée

- ✓ **Nature des cellules modifiées et délai d'apparition**
- ✓ **Arrondissement des cellules, augmentation de volume, formation de syncytia**
- ✓ **Evolution de la progression des foyers**

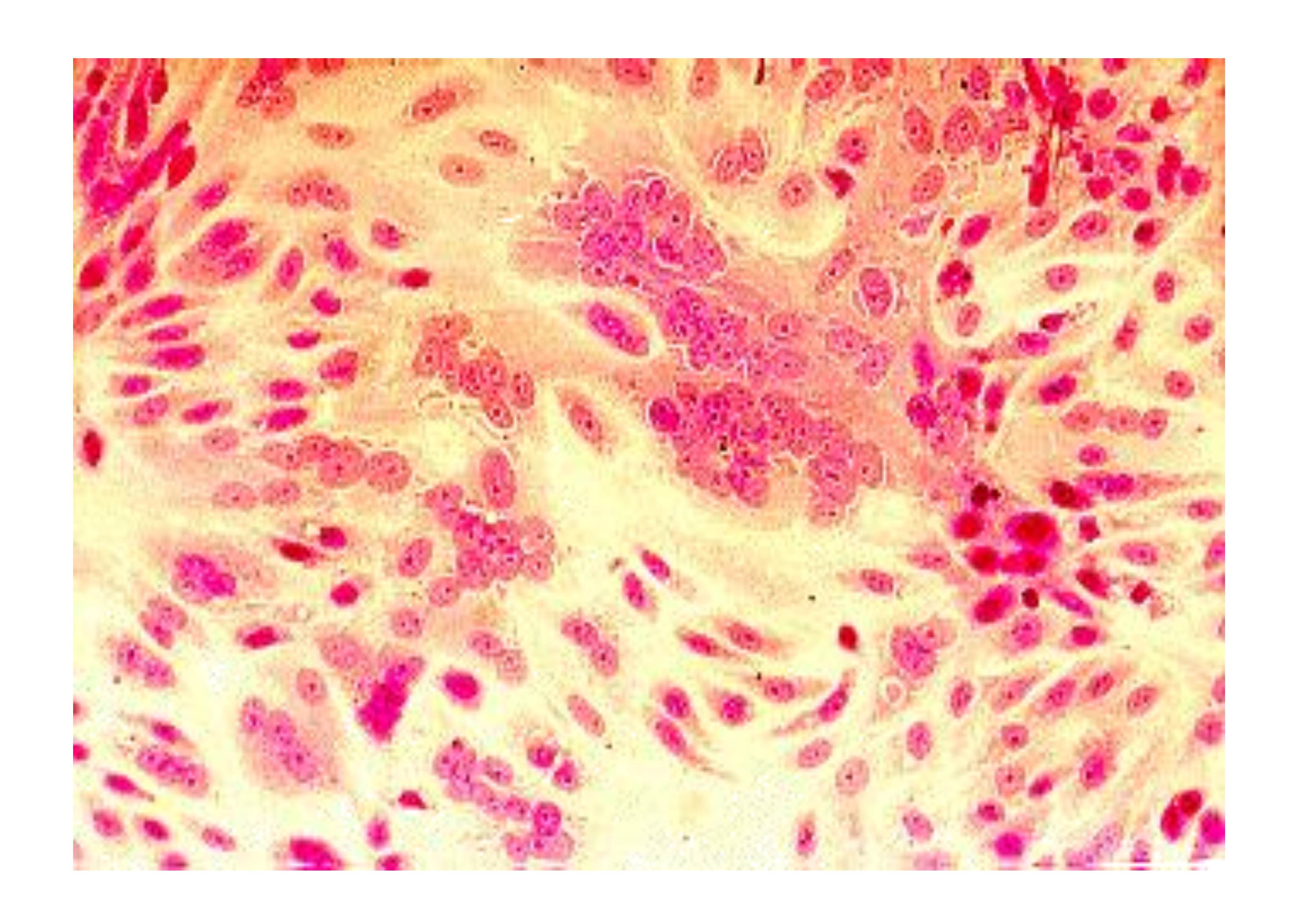
Culture cellulaire : effet cytopathogène CMV



Culture cellulaire : effet cytopathogène HSV



Culture cellulaire : effet cytopathogène VRS



ISOLEMENT VIRAL CLASSIQUE EN CULTURE CELLULAIRE

- Effet cytopathogène (ECP) : à l'observation à l'état frais au microscope

- Confirmation

  - ✓ Par immunofluorescence (ex : HSV-1, HSV-2, CMV, …)
  - ✓ Par hémadsorption (virus de la rubéole)
  - ✓ Par neutralisation avec anticorps spécifiques (picornavirus)

- Conservation des souches (études ultérieures possibles : sensibilité aux antiviraux, épidémiologie)

Problèmes associés à la culture cellulaire

- Souvent longue (jusqu'à 4 semaines)
- Souvent faible sensibilité, qui dépend en grande partie de la qualité du prélèvement (quantité d'inoculum viral), mais aussi du milieu de culture utilisé
- Sensible à la contamination bactérienne
- Sensible à diverses substances toxiques présentes dans le prélèvement
- De nombreux virus ne sont pas cultivables, exemples :
  - VHB
  - Parvovirus
  - Papillomavirus

Virus faciles à isoler en culture cellulaire

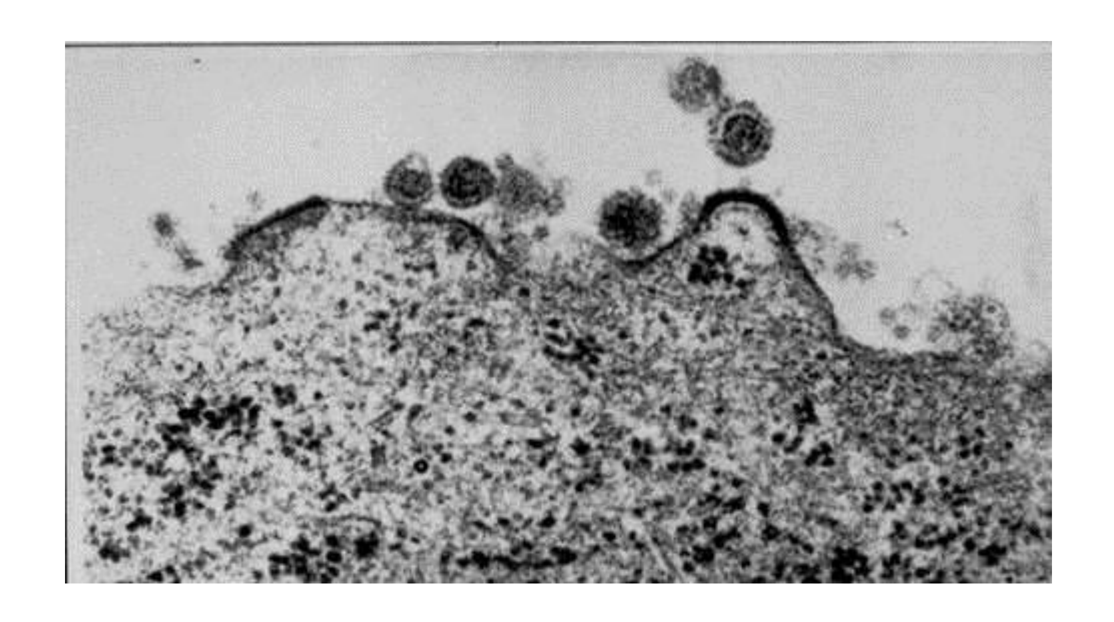
Herpes simplex
Cytomégalovirus
Adénovirus
Virus Coxsackie B
Echovirus
Influenza
Parainfluenza
Rhiniovirus
Virus des oreillons
Virus respiratoire syncytial
Virus de la varicelle et du zona

Virus moins fréquemment isolés

Virus de la rougeole
Virus de la rubéole
Virus Coxsackie A

CAS PARTICULIER DU VIH

Culture sur lymphocytes de donneurs séronégatifs





REGLES DE SECURITE POUR LA CULTURE DE VIRUS :

Laboratoire de haute sécurité microbiologique L3 (micro-organisme de classe 3) : ayant un pouvoir pathogène important chez l'homme mais présentant un risque mineur pour la collectivité et contre lesquels une prophylaxie ou des traitements efficaces sont connus.

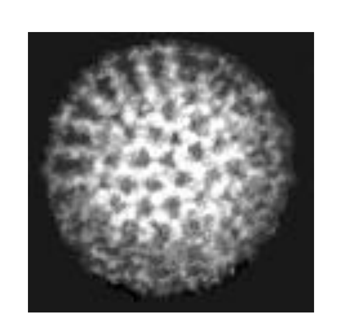
DIAGNOSTIC DIRECT

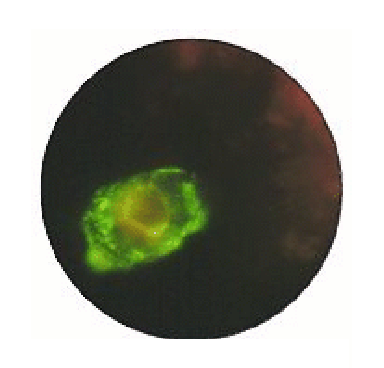
Visualisation du virus dans le prélèvement

Détection d’antigènes viraux

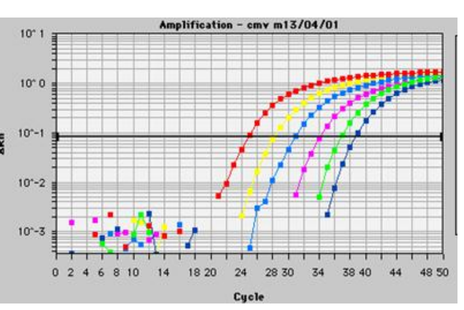
Isolement du virus sur cultures cellulaires

Détection du génome viral









DÉTECTION / QUANTIFICATION DES ACIDES NUCLÉIQUES

• Génomes viraux :

- **ADN**
- **ARN (étape de reverse transcription supplémentaire après extraction => ADN)**

• Prélèvements :

- sang total (plasma, sérum, leucocytes)
- autres (urines, LCR, expectorations, écouvillonnages, ponctions, sperme, biopsies, cultures)

• Conditions de prélèvement :

- tube sec => sérum (rare)
- tube EDTA ou ACD => plasma (+ fréquent), sang total
- urines, LCR, LBA, plasma séminal : riches en inhibiteurs de PCR (présence de contrôle interne pour vérifier absence de ces inhibiteurs)



héparine inhibiteur de la Taq polymérase, même si les techniques actuelles d’extraction y sont moins sensibles

Détection des acides nucléiques : EXTRACTION

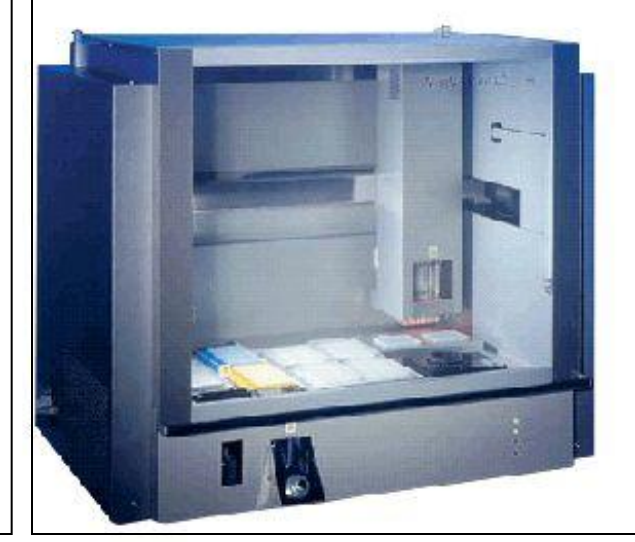
- **Lyse de la cellule et dénaturation des complexes nucléo-protéiques (détergent)**
- **Séparation des protéines (solvant)**
- **Précipitation des acides nucléiques (alcool)**



Extraction manuelle

Phénol/ chloroforme => méduse d'ADN

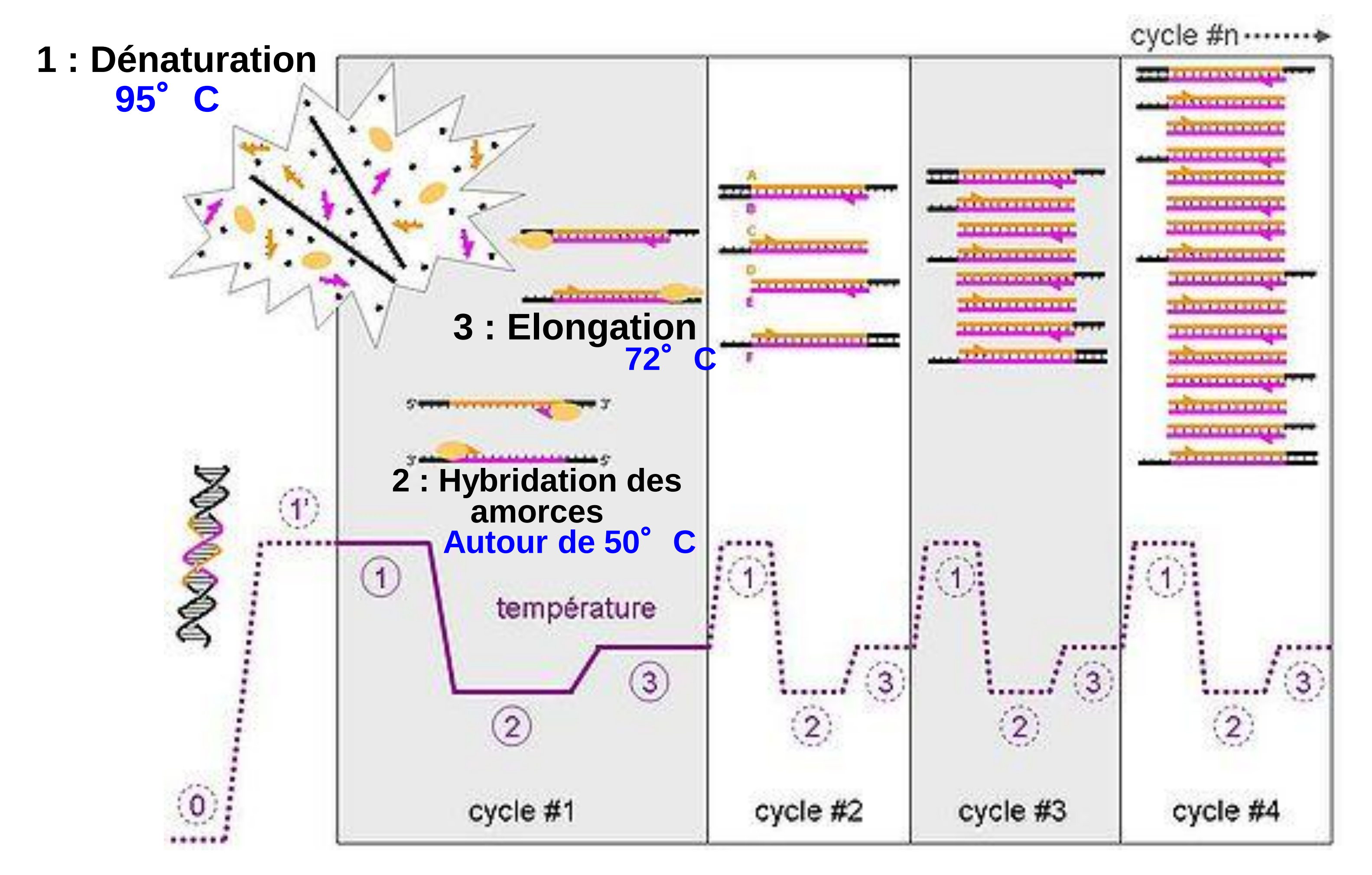
Extraction automatisée





Détection des acides nucléiques par AMPLIFICATION DE LA CIBLE

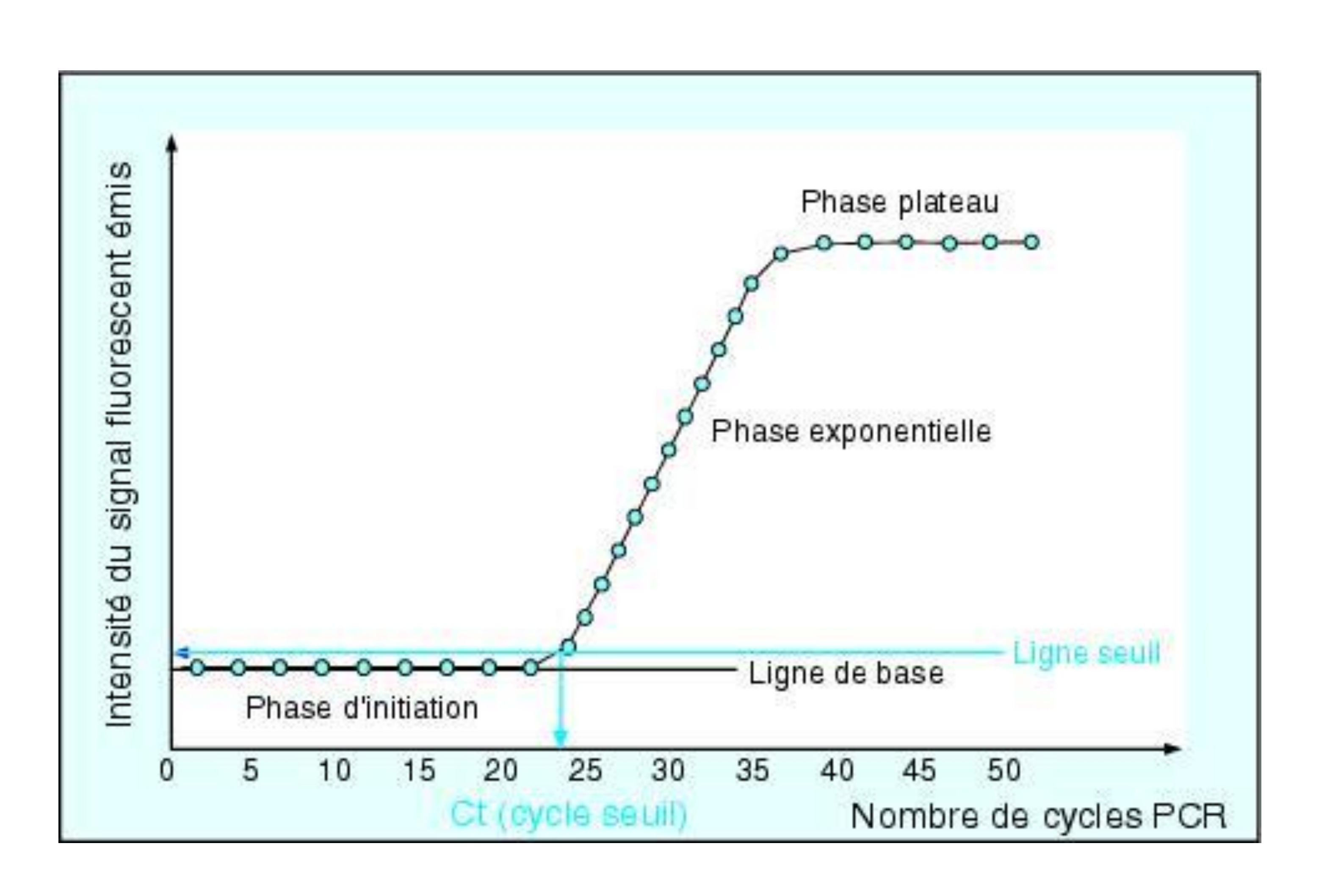
Polymerase Chain Reaction : PCR



Augmentation exponentielle du matériel d'ADN à chaque cycle d'amplification

AMPLIFICATION PAR PCR

Courbes de PCR

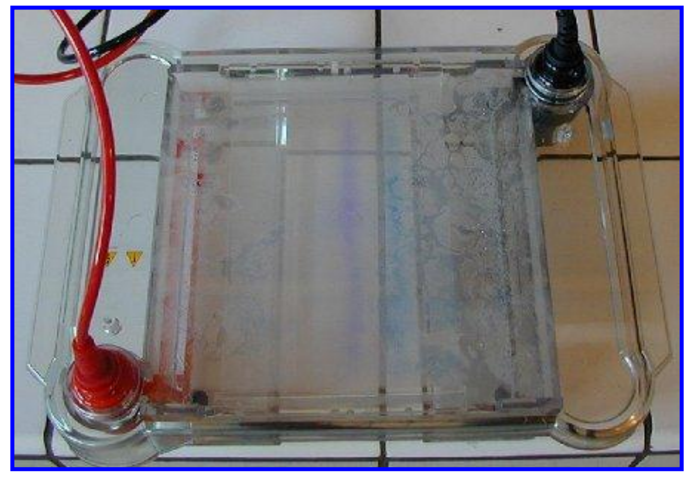


PCR QUALITATIVE

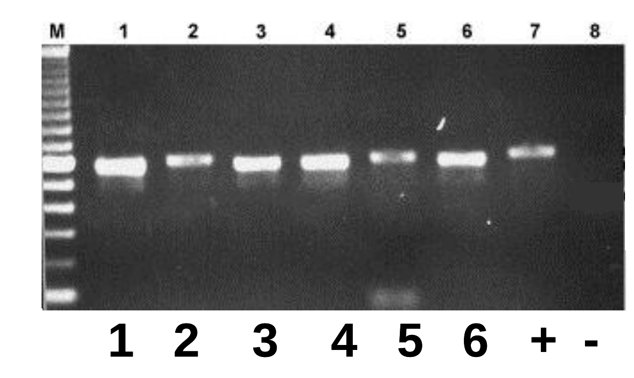
- Détection => Présence ou non du génome viral
- Etude en phase plateau



PCR : thermocycleur



Migration électrophorétique des amplicons sur gel d'agarose

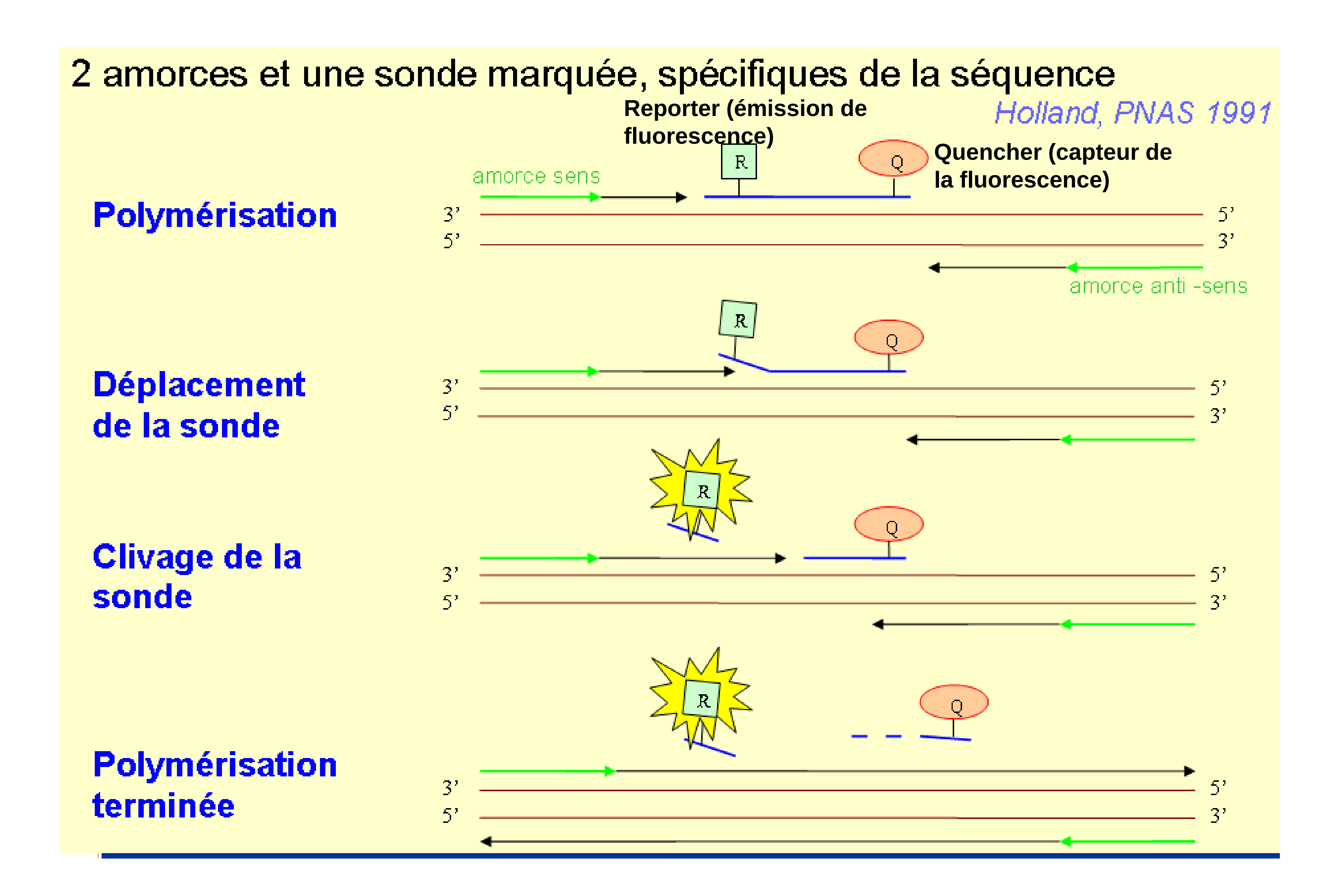


La révélation de l'ADN sur le gel d'agarose est réalisée par le bromure d'éthidium (BET)



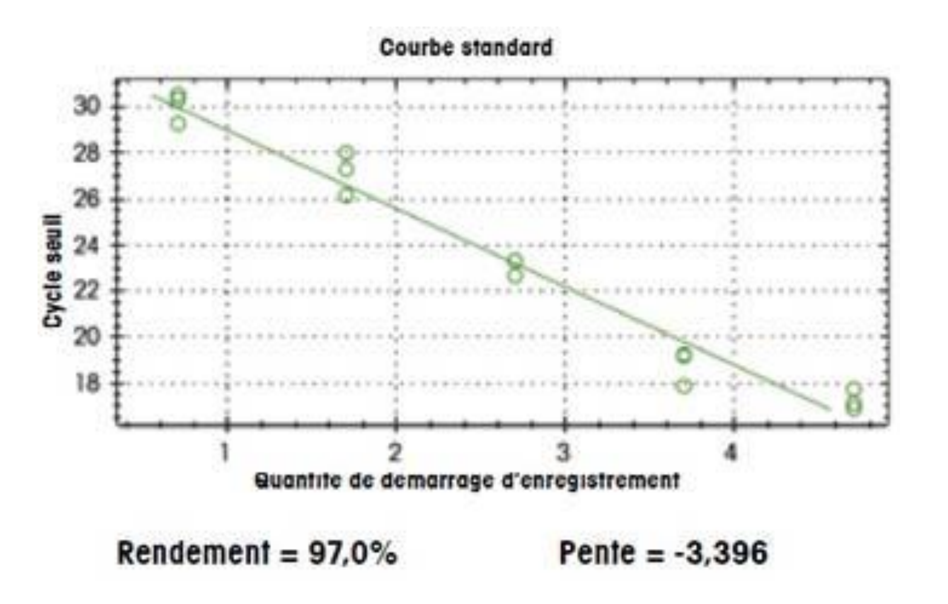
BET : intercalant de l'ADN=> risque mutagène et cancérigène

PCR QUANTITATIVE : PCR EN TEMPS REEL

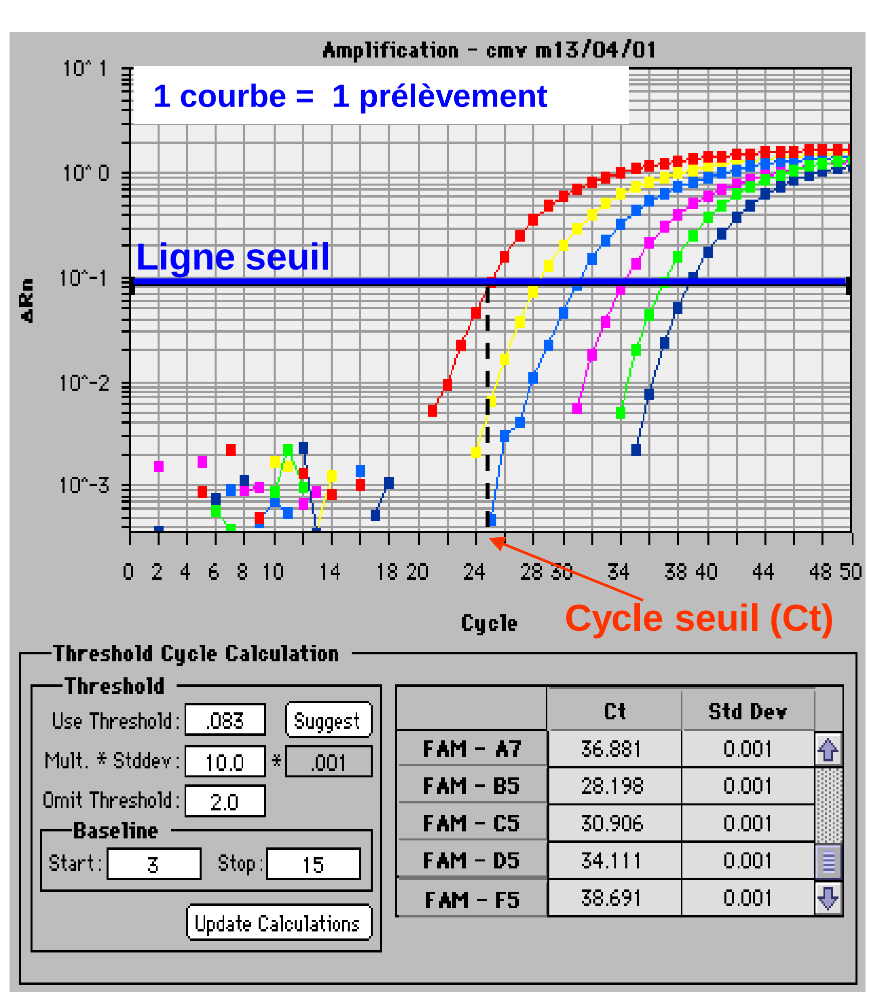


PCR QUANTITATIVE

- **Quantification du génome viral => Charge virale => Nombre de copies de virus/mL**
- **Etude en phase exponentielle de la PCR**



La courbe standard permet de déterminer la quantité pour un cycle seuil donné



PCR QUALITATIVE

APPLICATIONS EN VIROLOGIE MEDICALE :

- **Recherche de virus dans le LCR**
  HSV, VZV, Entérovirus

- **Recherche de virus dans les prélèvements respiratoires (LBA, aspirations naso-pharyngées, …)**
  CMV, Infuenzavirus

- **Recherche de virus dans les prélèvements de biopsie cutanéo-muqueuses**

- **Recherche de l'ADN proviral du VIH**
  Diagnostic de l'infection VIH chez les nouveaux-nés

PCR QUANTITATIVE

APPLICATIONS EN VIROLOGIE MEDICALE :

- Charges virales CMV, EBV (suivi post-greffe, patients immunodéprimés)
- Charges virales VIH, VHB, VHC (suivi efficacité traitement)







PCR QUALITATIVE « MULTIPLEX »

Multiplex : Recherche de plusieurs génomes viraux dans la même réaction de PCR (plusieurs couples d'amorces dans le mélange réactionnel)

Dans le même test :
- 16 virus ARN
- 2 virus ADN
- 4 bactéries

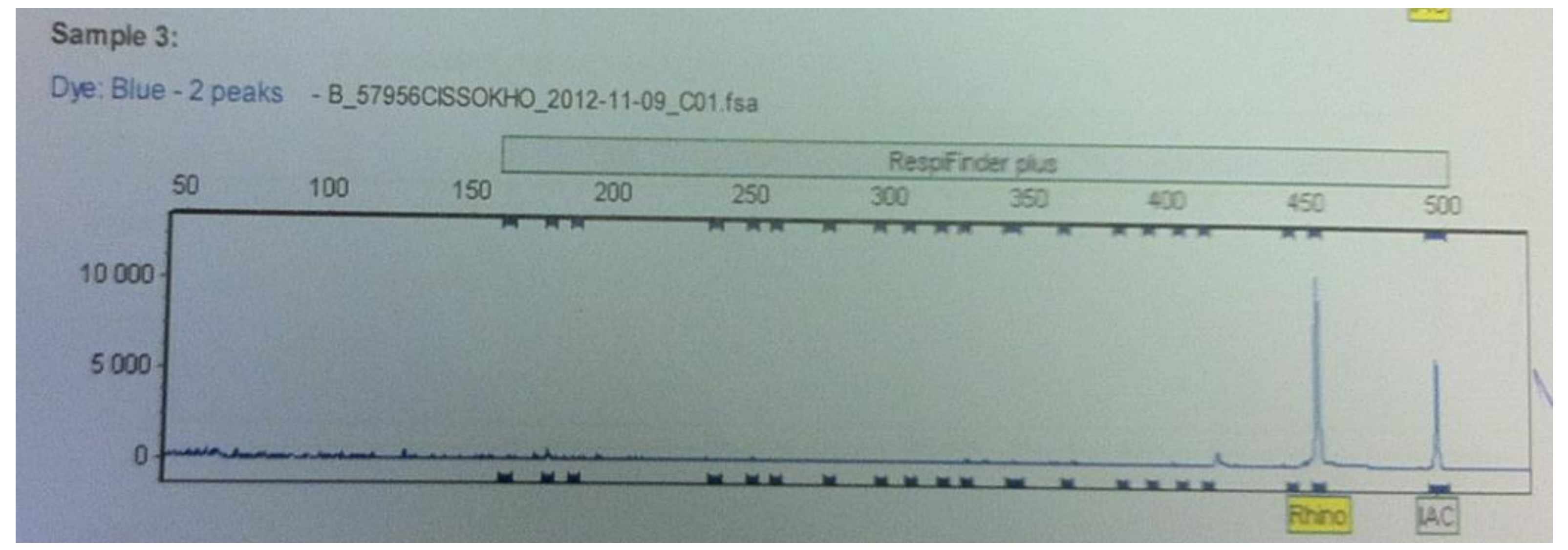
Selon le matériel utilisé résultats en moins de 6 heures



Résultats

RespiFinder® SMART 22

Sample 9:
Dye: Blue - 19 peaks - B_MARQUEUR_2012-11-09_A02.fsa
RespiFinder plus
50 100 150 200 250 300 350 400 450 500
1 000
500
0
Cor229E
CorOC43
CorNL63
B. pert.
VRS-B
VRS-A
L. pneu.
PIV 4
PIV 3
PIV 2
PIV 1
Adeno
hMPV
M. pneu.
Inf A H5N1
Inf B
Inf A
Rhino
IAC



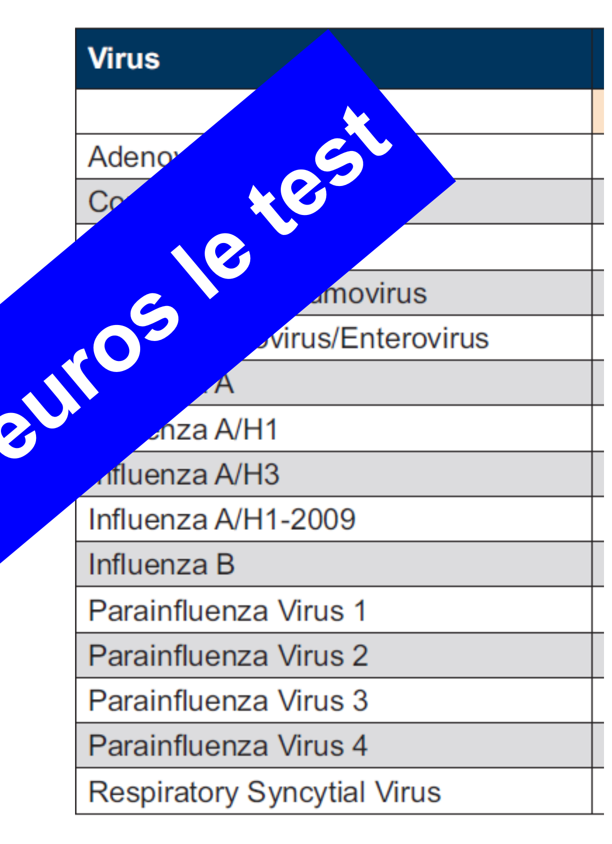
PCR suivie d'une lecture sur un séquenceur
Les pics correspondent à une taille d'amplicons

PCR QUALITATIVE « TECHNOLOGIE CLE EN MAIN »

- Intégration des étapes d’extraction, amplification, nested-PCR, et analyse en un seul et même instrument

- Résultats en 1 heure

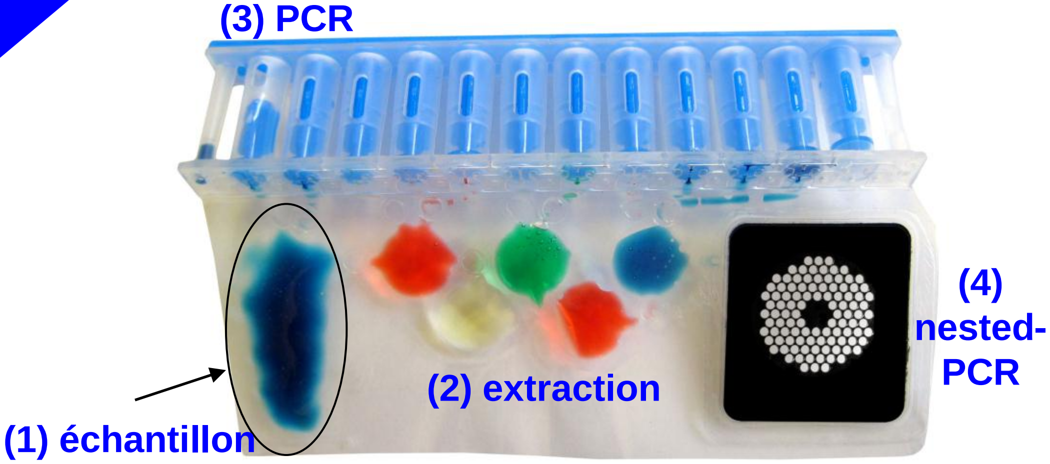
- Le panel de détection proposé vous … d'identifier simultanément plus de 1… respiratoires différents et 4 bacté…



Virus
Adeno…
Co…
…amovirus
…ovirus/Enterovirus
…A
…nza A/H1
…nfluenza A/H3
Influenza A/H1-2009
Influenza B
Parainfluenza Virus 1
Parainfluenza Virus 2
Parainfluenza Virus 3
Parainfluenza Virus 4
Respiratory Syncytial Virus

La technologie a un prix : 150 euros le test





AUTRES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

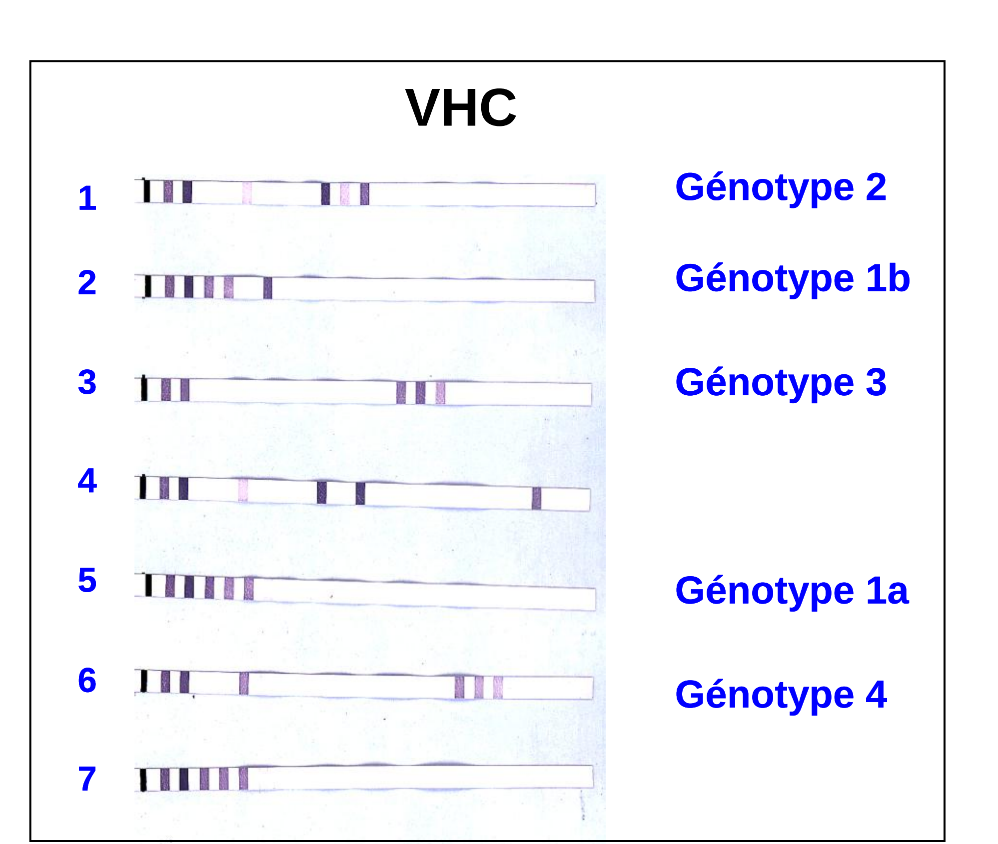
- **Hybridation inverse avec sondes spécifiques**
- **Séquençage du génome viral**
- **Analyses phylogénétiques**

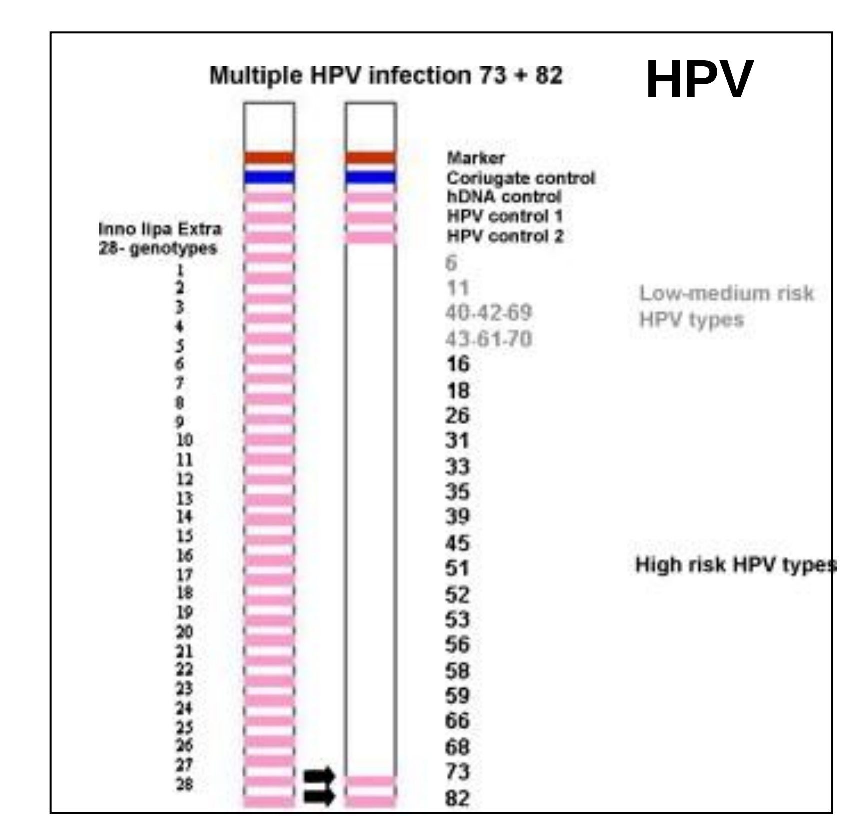
AUTRES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

Hybridation avec sondes spécifiques :

Détection à l'aide d'oligonucléotides spécifiques d'un génotype donné, incubation avec l'amplicon

=> Identification des génotypes VHC et Papillomavirus

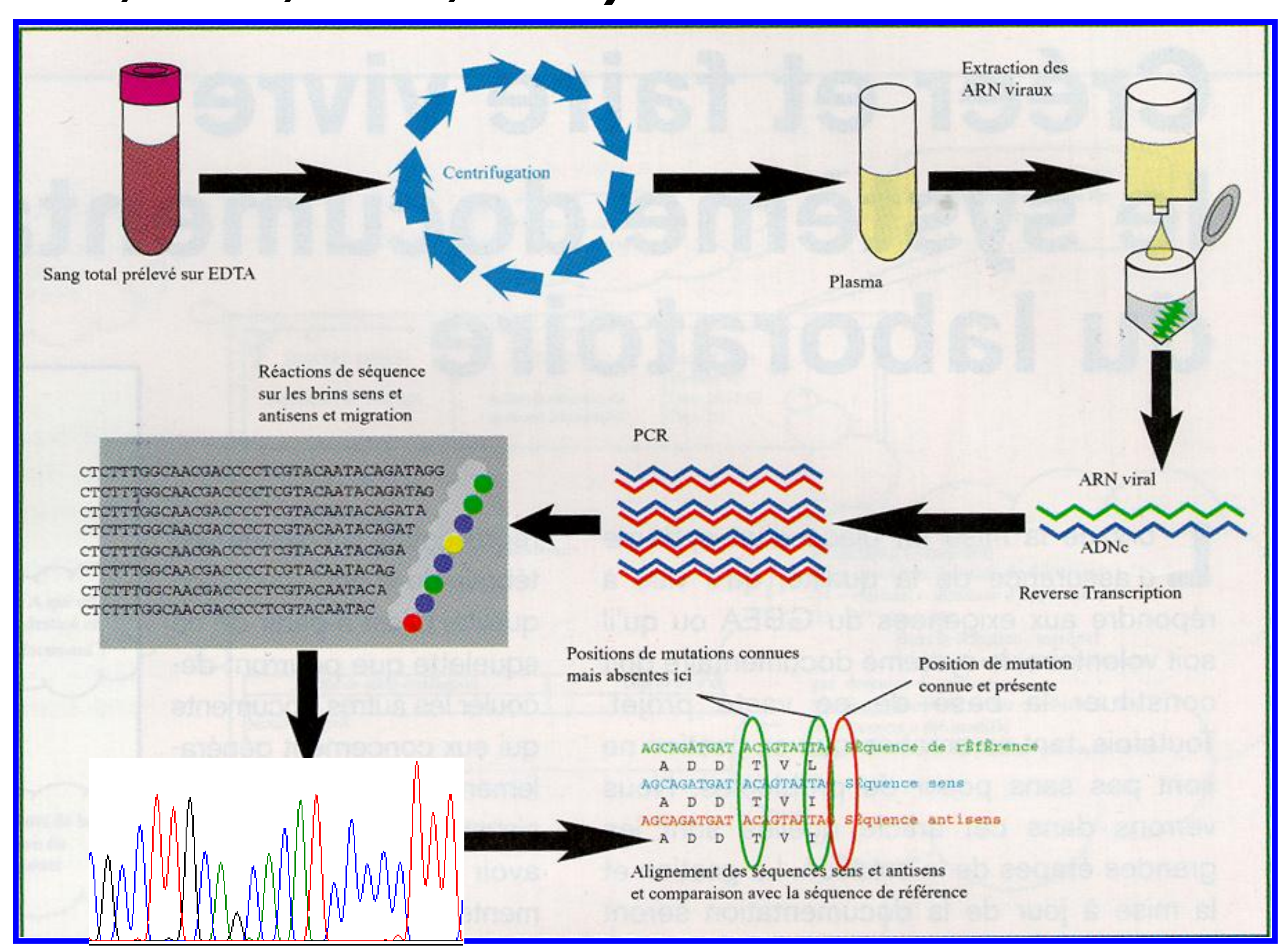




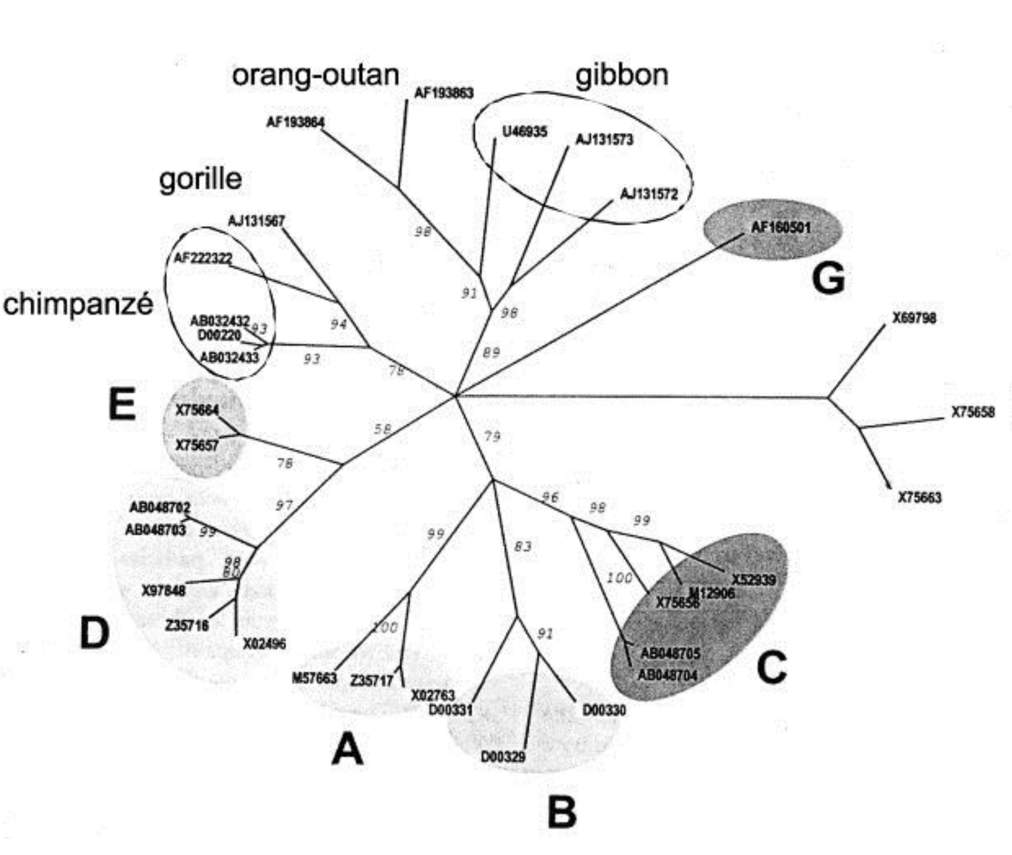
AUTRES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

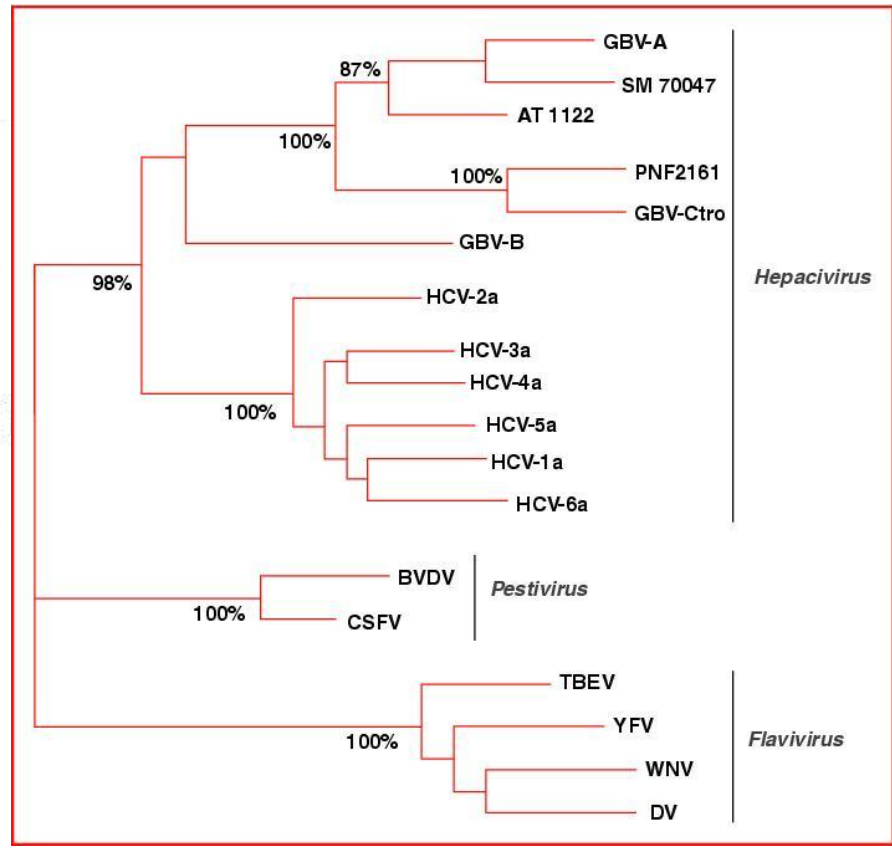
Séquençage du génome viral :

Détection des mutations de résistance aux antiviraux (VIH, VHB, VHC, CMV, HSV)



Analyses phylogénétiques : évaluation de la proximité de différentes séquences (liens épidémiologiques ?)





Diagnostic rapide par détection du génome viral : Biologie Moléculaire

- **Avantages**
  - Rapidité
  - Sensibilité +++
  - Applicable à l'analyse de l'ensemble des virus

- **Inconvénients**
  - Impact de la variabilité génétique +++ => non hybridation (+++ avec les virus à ARN)
  - Pas d'information sur le caractère infectieux des virus détectés (virus entier ? défectif ?)
  - Présence possible d'inhibiteurs
  - Risque de contamination (séparation des zones pré- et post-PCR)

DIAGNOSTIC INDIRECT

Sérologies
Sérodiagnostic



DIAGNOSTIC INDIRECT : SÉRODIAGNOSTIC

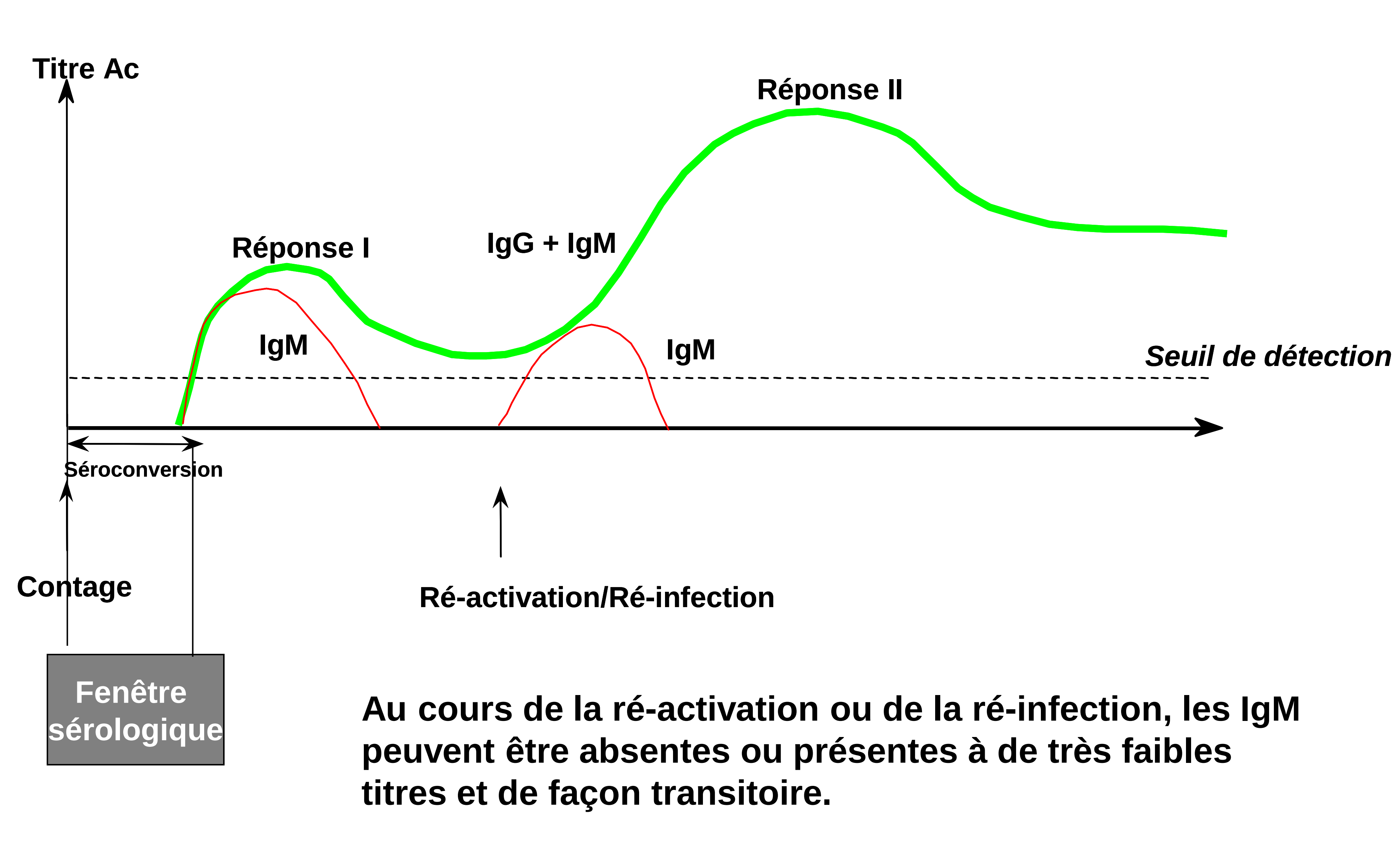
➔ **Mise en évidence des anticorps spécifiques synthétisés par l'hôte en réponse à l'infection virale**

- **Nature du prélèvement**
  - **Sérum**
  - **Autres : plasma, LCR, humeur aqueuse, liquide articulaire...**

- **Qualité**
  - **Décantation du sang dans un délai de 24 heures**
  - **Vérification de l'aspect (lipides, bilirubine)**

- **Sérothèque**
  - **Conservation 1 an à -20° C (sérothèque légale)**
  - **3 ans pour le diagnostic anténatal**

PROFIL SÉROLOGIQUE TYPIQUE APRÈS UNE INFECTION VIRALE AIGUË



Réaction Immuno-Enzymatique ELISA
Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Lecture

Révélation

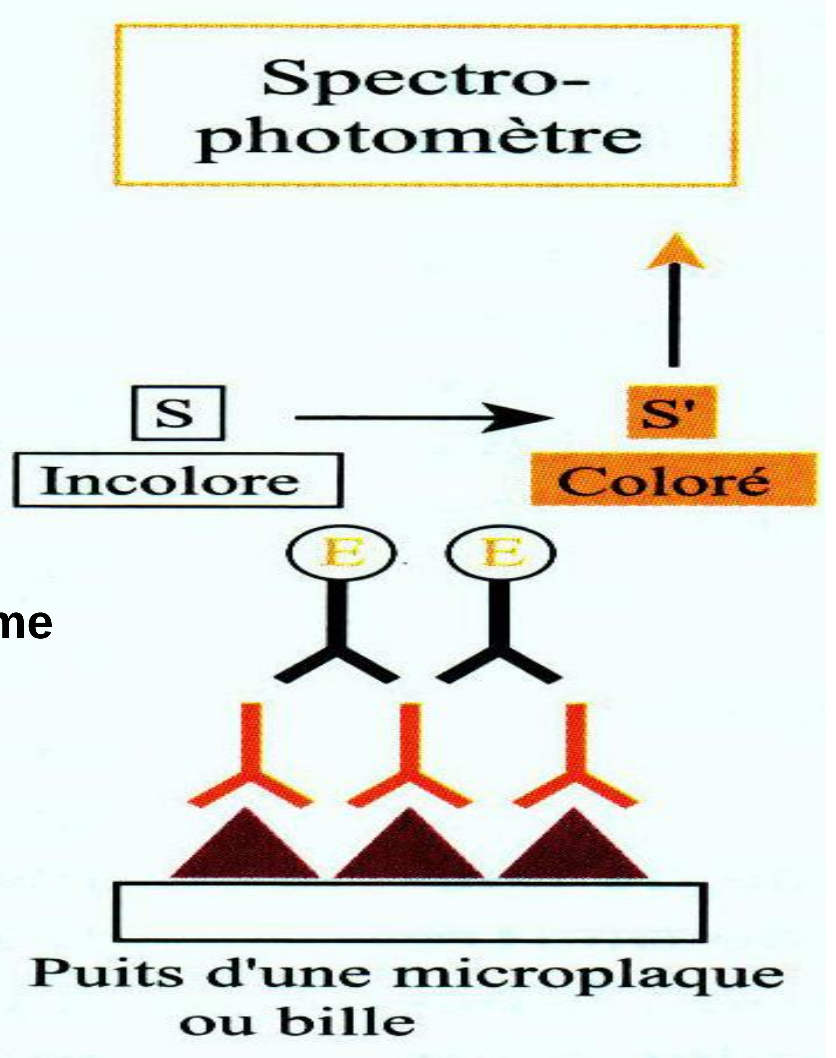
Substrat de l’enzyme

Deuxième Ac marqué par une Enzyme

Sérum du patient

Antigène viral

Support



Traité de virologie médicale, Huraux, Agut, Nicolas, Peigue-Lafeuille

DIAGNOSTIC INDIRECT : SÉRODIAGNOSTIC

- **Nature de l'antigène de capture des anticorps**
  - ➢ **Virus entier purifié (historique, 1ère génération)**
  - ➢ **Protéines virales natives ou recombinantes (2ème génération)**
  - ➢ **Peptides de synthèse (3ème génération)**

- **Détection des anticorps**
  - ➢ **Totaux (IgG + IgM)**
  - ➢ **IgG ou IgM**

- **Expression des résultats**
  - ➢ **Qualitatif (positif, négatif, douteux)**
  - ➢ **Quantitatif (titre)**

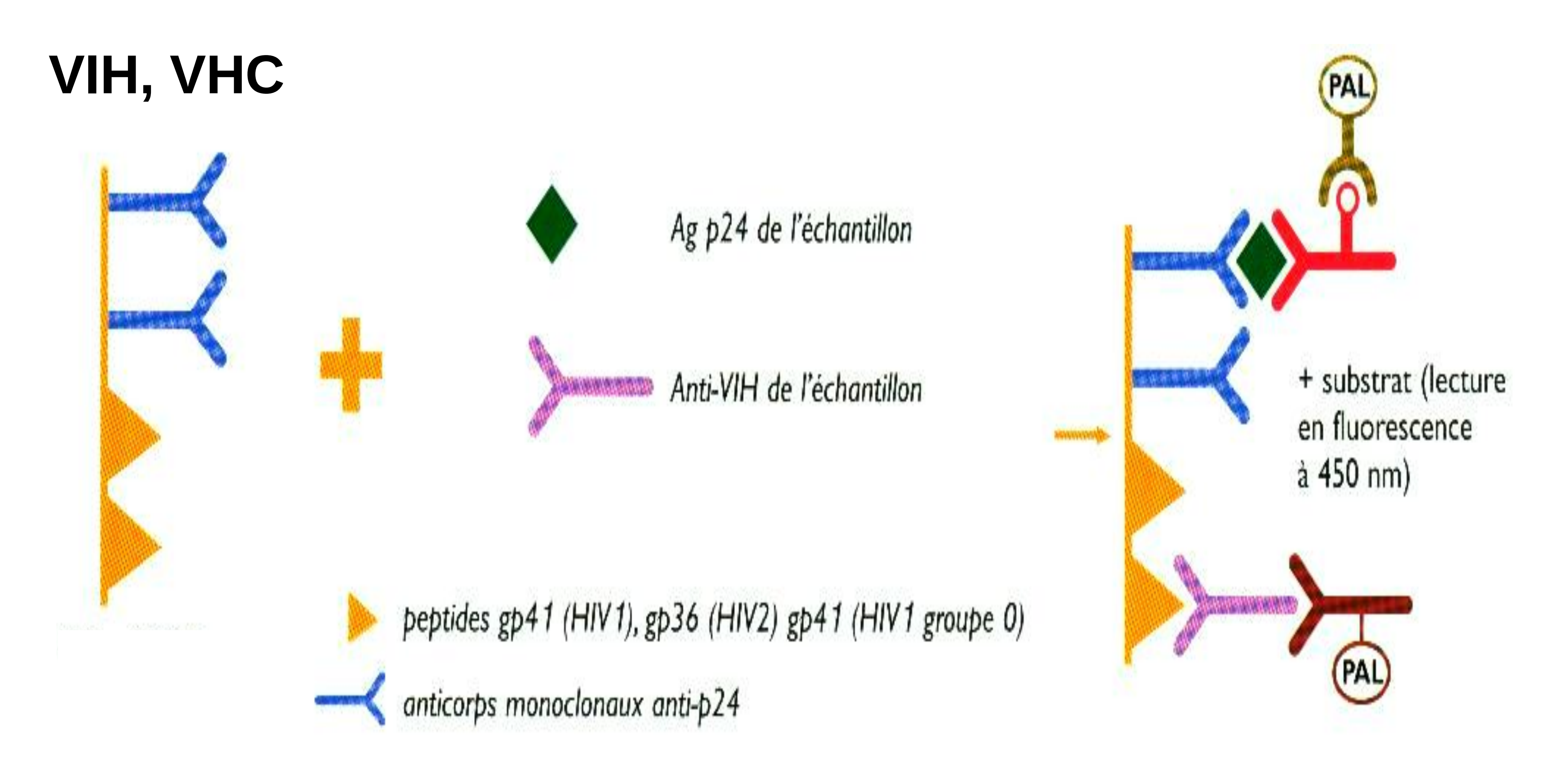
Test ELISA (Dépistage VIH)



Les puits colorés correspondent à un signal positif : présence d'Ac

DÉPISTAGE COMBINÉ : Ac + Ag
=> ELISA 4ème génération

VIH, VHC



Diagnostic de l'infection 15 à 17 jours après le contage => Réduction de la durée de la fenêtre sérologique

SÉRODIAGNOSTIC : INDICATIONS

- **Détermination du statut immunitaire d'un individu vis-à-vis d'un virus**
  - **Dépistage ; avant vaccination ; bilan de greffe ; études épidémiologiques**
  - **Examen d'un seul sérum**
  - **Résultat qualitatif**

  - **Exemples : VIH, VHC, VHB (Ag HBs), HTLV, CMV, EBV, …**

- **Evaluation de l'immunité résiduelle après une infection ou une vaccination**
  - **Examen d'un seul sérum**
  - **Résultat quantitatif**

  - **Exemple : VHB (Ac anti-HBs)**

SÉRODIAGNOSTIC : INDICATIONS

- **Diagnostic d'une infection aiguë en cours ou récente :**

✓ **Examen de deux sérums successifs à 15-21 jours d'intervalle**

- Séroconversion (apparition d'Ac)
- Elévation significative du titre des anticorps : x 4

✓ **Examen d'un seul échantillon**

- Recherche d'IgM
- Index d'avidité des anticorps IgG (capacité d'un Ac à se fixer à l'Ag) permet de dater l'infection

Avidité faible => infection < 3 mois

Avidité forte => infection >3 mois

SÉRODIAGNOSTIC : INTERPRETATIONS

- **Absence d'IgG**
  - ➢ **Prélèvement très précoce ➔ Faire un deuxième prélèvement**
  - ➢ **Patient immunodéprimé ➔ Pratiquer une recherche directe (ex : PCR VHC, PCR CMV)**
- **Résultat quantitatif (titre) isolé**
  - ➢ **Ne permet pas de dater une infection**
- **Résultats séquentiels**
  - ➢ **Ne comparer que les résultats obtenus dans un même laboratoire, au cours de la même manipulation**
- **Détection d'IgM**
  - ➢ **Possibilité de faux négatifs : Réponse inconstante, de courte durée ou retardée**
  - ➢ **Possibilité de faux positifs :**
    - ✓ **Manque de spécificité des préparations antigéniques**
    - ✓ **Présence de facteur rhumatoïde**
    - ✓ **Réactions antigéniques croisées**
    - ✓ **Activations polyclonales non spécifiques**

SÉRODIAGNOSTIC : INTERPRETATIONS

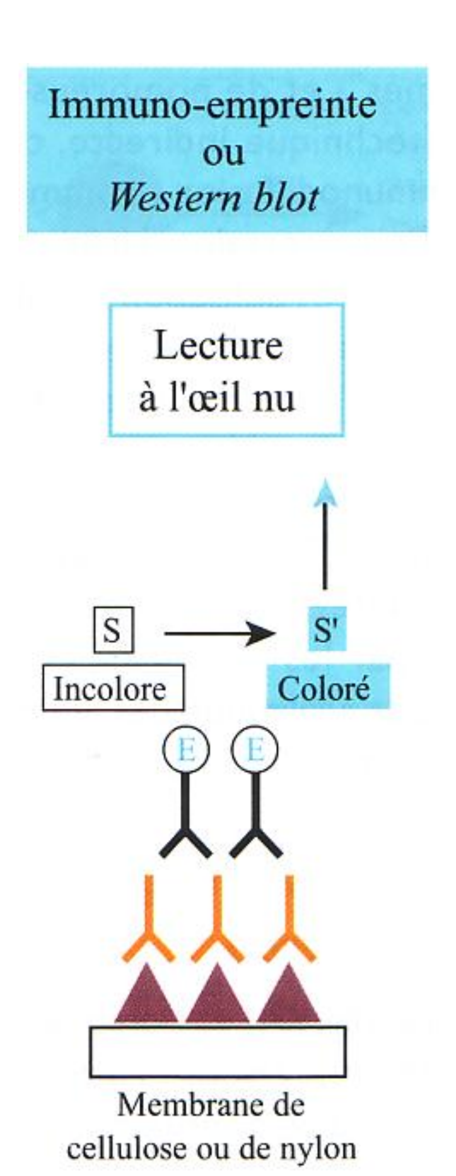
- **Critères pour le diagnostic de primo-infection**
  - Augmentation par un facteur de 4 ou plus du titre des IgG ou des anticorps totaux, entre un sérum “aigu” et un sérum “convalescent”
  - Présence d’IgM
  - Séroconversion

- **Critères pour le diagnostic de ré-infection**
  - Augmentation par un facteur de 4 ou plus du titre des IgG ou des anticorps totaux, entre un sérum “aigu” et un sérum “convalescent”
  - Absence ou faible titre d’IgM

Intérêt de confronter les résultats de la sérologie avec ceux du diagnostic direct

AUTRES TECHNIQUES DU SERODIAGNOSTIC

Western-Blot de confirmation (Infection par le VIH)



1 2 A B C

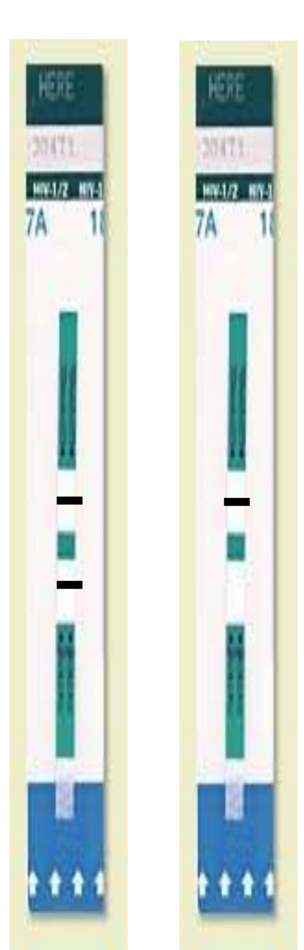
gp 160
gp 120
p55
gp41
p31
p24

- **Bandelette 1 : Contrôle positif**
- **Bandelette 2 : Contrôle négatif**
- **Sérum A: Negatif**
- **Sérum B: Indeterminé**
- **Sérum C: Positif**

AUTRES TECHNIQUES DU SERODIAGNOSTIC

Tests Rapides à Orientation Diagnostique (TROD)

- Ne nécessitent pas « d'équipements » de laboratoire
- 10-20 min
- Lecture visuelle
- Sensibilité « légèrement » inférieure aux nouvelles techniques ELISA (séroconversion)
- Aide au diagnostic d'urgence et en situation de détresse matérielle (Accidents d'exposition au sang ou sexuels)
- France : en association obligatoire avec le test ELISA



+ -



- +



RESULTATS EN MOINS DE 60 SECONDES

A Bichat disponible aux Urgences, CDAG, Gynécologie-Obstétrique

RESUME (EXEMPLES)

Diagnostic rapide par recherche directe :

Microscopie électronique (±)

. Calicivirus

. Virus de Norwalk

. HSV

Immunofluorescence

. Influenza
. Paramyxovirus
. HSV, VZV, CMV
. Adénovirus
. VRS

Antigènes viraux

(ELISA ou agglutination)
. VIH (Ag p24)

. VHB (Ag HBs)
. Adénovirus (selles)

Biologie moléculaire PCR

. A visée diagnostique :
- VHC, papillomavirus
- LCR : HSV, VZV, CMV, JC

. A visée thérapeutique :
- Quantification virale : VIH, VHC, VHB, CMV
- Mutations de résistance : VIH, HSV, CMV, VHB

. A visée épidémiologique

Virus non cultivables ou de culture difficile

Sérodiagnostic

Méthode de choix pour :
. Virus d'Epstein-Barr
. Virus de la rubéole
. Virus des hépatites (A, B, C, D et E)
. HTLV